

# PRODUKSI BIOETANOL DARI MAHKOTA NANAS MENGGUNAKAN BAKTERI *ZYMOMONAS MOBILIS* DENGAN VARIASI KONSENTRASI INOKULUM DAN PENAMBAHAN NUTRISI

Suci Rahmadani<sup>1)</sup>, Sri Rezeki Muria<sup>2)</sup>, Syelvya Putri Utami<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Mahasiswa Jurusan Teknik Kimia <sup>2)</sup>Dosen Jurusan Teknik Kimia

Laboratorium Teknologi Bioproses

Program Studi Teknik Kimia S1, Fakultas Teknik, Universitas Riau

Kampus Bina Widya Jl. HR. Soebrantas Km 12,5 Simpang Baru, Panam,

Pekanbaru 28293

Email : [sucirahmadani224@gmail.com](mailto:sucirahmadani224@gmail.com)

## ABSTRACT

*Depletion of fuel oil encourage to find alternative energy that can be renewable to support requirement energy. Therefore, looked for alternative sources of raw materials and the potential is lignocellulosic biomass. This study uses the crown of the pineapple as the main raw material. This pineapple crown containing cellulose that can be utilized as bioethanol. This study was conducted to produce ethanol by fermentation of cellulose pineapple crown with treatment concentration inoculum at 12%, 14% and 16% with the addition nutrition of urea 0,6 g/l and fermentation time of 24, 48, 72, 96 and 120 hours. The fermentation was conducted in batch process. The result showed that inoculum volume and substrate fermentation also ethanol increased since the population of cells improved. The highest yield of bioethanol is 6% (v/v) at inoculum concentrated 14% and the fermentation time 96 hours.*

**keywords :** *delignification, hydrolysis, fermentation, urea.*

## 1. PENDAHULUAN

Kelangkaan bahan bakar minyak merupakan keadaan yang hampir ditemukan di berbagai daerah di Indonesia. Kelangkaan tersebut dikarenakan penggunaan bahan bakar minyak masih bergantung terhadap bahan bakar minyak berbasis fosil. Salah satu sumber energi alternatif terbaru yang berpotensi besar untuk dikembangkan adalah bahan bakar nabati yang merupakan bahan bakar dari sumber daya hayati.

Saat ini telah dikembangkan pemanfaatan bioetanol sebagai sumber energi terbarukan. Bioetanol merupakan bahan bakar alternatif yang baik sebagai pengganti bahan bakar cair yang bahan

bakunya dapat diperbarui dan tidak merusak lingkungan. Sebelumnya bioetanol terbuat dari gula dan pati-patian yang masih berpotensi dengan pakan dan pangan, maka pembuatan bioetanol dari gula dan pati tidak memungkinkan lagi karena kebutuhan pakan dan pangan yang lebih penting. Oleh sebab itu dicari sumber bahan baku alternatif dan potensial yaitu biomassa lignoselulosa. Biomassa ini tidak berpotensi pada pakan dan pangan, tersedia melimpah, dan murah. Konversi biomassa menjadi bioetanol merupakan teknologi yang mempunyai nilai ekonomis, karena dapat memanfaatkan bahan limbah sebagai bahan baku pembuatan bioetanol. Teknologi ini sudah dikembangkan mulai

abad ke 18 dan hingga saat ini. (Ningrum, 2015)

Di Indonesia tanaman nanas sangat cocok untuk dibudidayakan karena sesuai dengan iklim di Indonesia. Salah satu sentra produksi nanas terbesar di Indonesia yaitu di Provinsi Riau. Pada umumnya masyarakat hanya memanfaatkan daging nanas saja sedangkan mahkota buah nanas tersebut biasanya langsung dibuang atau tidak digunakan lagi. Manfaat mahkota nanas ini dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol.

Pembuatan bioetanol ini terdiri dari delignifikasi, hidrolisis, fermentasi dan evaporasi. Delignifikasi dan hidrolisis merupakan proses *pre-treatment*. Proses delignifikasi ini bertujuan untuk menghilangkan kandungan lignin yang terdapat di mahkota buah nanas yang dapat menghambat proses fermentasi. Selulosa yang didapatkan dari proses delignifikasi ini selanjutnya dilakukan proses hidrolisis yaitu proses pengkonversian selulosa menjadi glukosa dengan bantuan enzim selulase. Setelah itu baru dilakukan proses fermentasi dengan bantuan mikroorganisme *Zymomonas mobilis*.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1 Bahan dan Alat

#### 2.1.1 Bahan

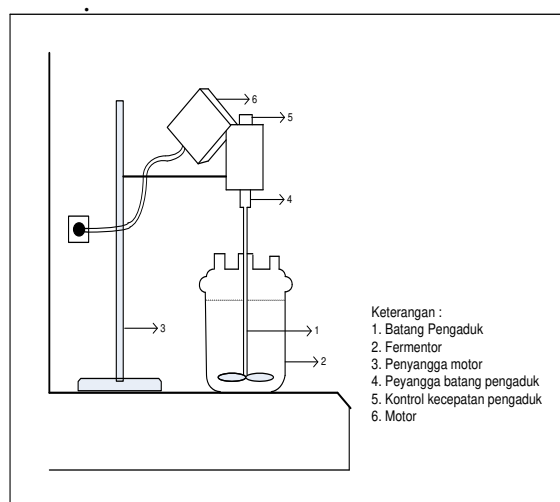
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mahkota buah nanas berasal dari Kabupaten Kampar, bakteri *Z.mobilis*, NaOH, HCl, NaOCl 5% dan Enzim Selulase yang digunakan pada proses *pre-treatment* dan hidrolisis biomassa, Urea (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O sebagai sumber nutrisi bakteri, *Buffer* sitrat berfungsi untuk menjaga pH sesuai dengan besaran yang diinginkan, Aquadest, reagen *Nelson Somogyi*.

#### 2.1.2 Alat

Peralatan digunakan dalam penelitian ini adalah : *Fermentor*, *autoclave*, *inkubator*, pengaduk, *rotary evaporator*, *erlenmeyer*, labu leher tiga, pH meter, jarum ose, *oven*, spatula, labu ukur, cawan petri, *shaker*, spektrofotometer, kertas saring, timbangan analitik, tabung reaksi dan rak, gelas ukur, dan peralatan gelas lainnya.

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi 2, yaitu variabel tetap dan variabel berubah. Variabel tetap pada penelitian ini adalah medium fermentasi berupa mahkota nanas, pH awal 5,5 (Akbar, 2011), suhu operasi pada suhu ruang, kecepatan pengadukan 120 rpm (Aditya, 2011), serta nutrisi berupa KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> sebanyak 0,1 g/l, MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O sebanyak 0,05 g/l dan urea sebanyak 0,6 g/l (Rahmah, 2015).

Variabel berubah pada penelitian ini adalah waktu pengambilan sampel yaitu pada 24, 48, 72, 96 dan 120 jam, volume inokulum 12%, 14%, dan 16%.



**Gambar 1** Rangkaian Alat Fermentasi

### 2.2 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri dari beberapa tahap sebagai berikut.

### 2.2.1 Tahap Persiapan

Tahap persiapan meliputi persiapan bahan baku dan pembuatan kurva standar glukosa.

#### 1. Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Kurva standar glukosa digunakan dalam penentuan konsentrasi glukosa dari substrat dengan metode Nelson-Samogyi (Sudarmadji, 1989). Kurva ini menyatakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi glukosa. Dengan kurva ini larutan yang mengandung gula (gula pereduksi) dapat diketahui konsentrasinya dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak.

#### 2. Penyiapan Bahan Baku (substrat)

##### a) Delignifikasi (*Pretreatment*)

Pada proses ini mahkota nanas dijemur dibawah sinar matahari, setelah kering dipotong kecil-kecil lalu dimasak dengan larutan NaOH 1 M sampel kemudian dicuci menggunakan aquades sampai didapatkan pH netral. Tahap kedua adalah proses pemucatan. Mahkota nanas direndam dalam larutan NaOCl 5%. Tahap ketiga adalah perlakuan dengan asam menggunakan HCl 1 M. Kemudian dicuci menggunakan aquades lalu dioven pada suhu 105°C untuk menghilangkan kadar air. Lalu mahkota buah nanas diblender hingga menyerupai tepung. Lalu timbang berat tepung (selulosa) yang dihasilkan.

##### b) Hidrolisis

Hasil *pretreatment* berupa selulosa dimasukkan ke dalam fermentor lalu ditambahkan larutan *buffer* sitrat pH 5.5. Kemudian tambahkan enzim selulase dan diaduk selama 1 menit, diamkan selama 48 jam. Setelah didiamkan selama 48 jam uji kadar glukosa yang diperoleh.

### 2.2.2 Tahap Penelitian

#### 1. Persiapan Inokulum

Inokulum dibuat sesuai variabel yaitu 12%, 14% dan 16%. Tambahkan nutrisi  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  sebanyak 0,1 g/l,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  sebanyak 0,05 g/l. Stok bakteri *Z.mobilis* dimasukkan ke dalam erlemeyer berisi media tumbuh yang telah disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit dan kemudian erlemeyer di *shaker* selama 24 jam pada kecepatan 120 rpm (Aditya, 2011). Setelah 24 jam dilakukan uji OD (*Optical Density*).

#### 2. Penyiapan Medium Fermentasi (substrat)

##### a. Persiapan medium fermentasi

Medium fermentasi ditambahkan nutrisi yaitu  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  sebanyak 0,1 g/l,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  sebanyak 0,05 g/l dan 0,6 g/l  $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$  lalu diaduk hingga merata (homogen). Selanjutnya medium fermentasi disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, lalu dinginkan sampai suhu kamar.

##### b. Proses Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan dengan cara menambahkan sejumlah inokulum kedalam medium fermentasi dengan komposisi 12%, 14% dan 16% . Fermentasi dilakukan pada suhu kamar. Waktu fermentasi divariasikan pada 24, 48, 72, 96 dan 120 jam untuk mengamati pengaruh waktu fermentasi terhadap bioetanol yang dihasilkan.

### 2.2.3 Tahap Analisa

Pada penelitian ini parameter yang dianalisa yaitu konsentrasi bioetanol dan konsentrasi gula substrat. Konsentrasi bioetanol diukur menggunakan alkoholmeter. Konsentrasi gula substrat berupa kadar gula awal dan kadar gula akhir dianalisa dengan metode *Nelson-Somogyi* menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Sudarmadji, 1997).

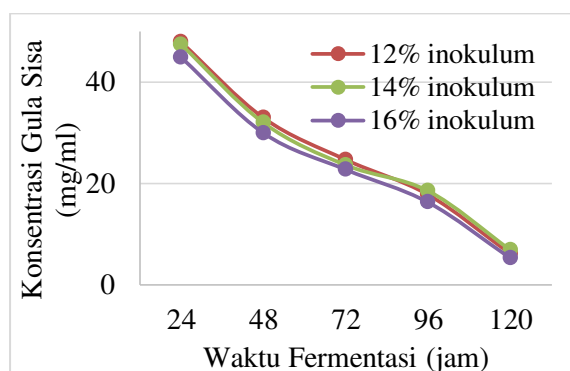
### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Pengaruh Waktu Fermentasi

##### Terhadap Konsentrasi Gula Sisa

##### Hasil Fermentasi

Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan analisa terhadap konsentrasi gula sisa dengan metode Nelson-Somogyi menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Gula sisa yang diuji merupakan sampel dengan pengambilan 24, 48, 72, 96 dan 120 jam. Data konsentrasi gula sisa didapatkan dengan memasukkan nilai absorbansi kedalam persamaan kurva standar glukosa. Data yang diperoleh kemudian ditampilkan dalam bentuk hubungan waktu fermentasi terhadap konsentrasi gula sisa. Analisa gula sisa bertujuan untuk melihat efektivitas sel dalam mengkonversi gula menjadi bioethanol. Pengaruh waktu terhadap konsentrasi gula sisa dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2** Hubungan Waktu Fermentasi Terhadap konsentrasi Gula Sisa Fermentasi

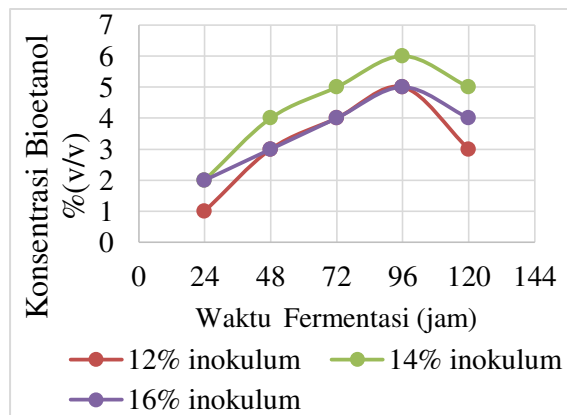
Dari Gambar 2 menunjukkan semakin lama waktu fermentasi, konsentrasi gula yang tersisa semakin kecil. Hal ini disebabkan gula yang terdapat pada substrat terkonversi menjadi bioethanol dan sebagian digunakan sebagai sumber karbon (C) untuk proses pertumbuhan mikroorganisme (Retno dan Nuri, 2011).

Seiring berjalannya waktu, konsentrasi gula akan berkurang sejalan dengan bertambahnya konsentrasi bioethanol yang terbentuk, selain terkonversi menjadi bioethanol, gula berfungsi sebagai bahan makanan bagi bakteri untuk mempertahankan hidupnya dan bereproduksi (Bailey dan David, 1986). Menurut Rachman (1991) penurunan konsentrasi gula terjadi karena *Z.mobilis* membutuhkan substrat untuk pertumbuhan, baik memperbanyak maupun mempertahankan hidup sel. *Z.mobilis* mengkonsumsi gula untuk beraktivitas sehingga menghasilkan bioethanol sebagai metabolit primer.

#### 3.2 Pengaruh Konsentrasi Inokulum dan Waktu Fermentasi terhadap Kadar Bioethanol

Fermentasi bioethanol dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah konsentrasi inokulum. Inokulum merupakan biakan mikroba *Z.mobilis* yang ditumbuhkan di dalam substrat atau medium fermentasi. Inokulum memiliki peran yang penting dalam menunjang keberhasilan proses fermentasi. Pada fermentasi mahkota buah nanas ini digunakan inokulum bakteri *Z.mobilis* karena memiliki banyak kelebihan, diantaranya adalah lebih toleran terhadap suhu, pH rendah (Ismail, 2009), serta tahan terhadap bioethanol konsentrasi tinggi (Rogers dkk, 2007). Dimana pada penelitian ini konsentrasi inokulum divariasikan yaitu 12%, 14% dan 16% dan pada setiap variasi konsentrasi inokulum akan ditambah dengan nutrisi yang berbeda yaitu urea dan amonium sulfat, untuk pengambilan sampel pada 24, 48, 72, 96 dan 120 jam. Kondisi optimum pada fermentasi ini ditentukan dengan cara mengukur konsentrasi bioethanol hasil

fermentasi yang telah di *rotary evaporator* terlebih dahulu untuk memisahkan impuritis-impuritis dari hasil fermentasi. Konsentrasi bioetanol diukur dengan menggunakan alkoholmeter. Konsentrasi bioetanol yang diperoleh pada masing-masing variabel penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3** Hubungan Variasi Konsentrasi Inokulum dan Waktu Fermentasi Terhadap Perolehan Bioetanol

Berdasarkan Gambar 3 dapat dilihat bahwa pada variasi konsentrasi inokulum 12% konsentrasi bioetanol cenderung meningkat hingga mencapai puncaknya pada waktu fermentasi 96 jam yakni sebesar 5% (v/v). Waktu fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas bakteri karena semakin lama fermentasi, maka bakteri semakin aktif berkembangbiak, artinya semakin banyak jumlahnya, sehingga mempunyai kemampuan untuk memecah substrat semakin besar (Wibowo, 2015). Setelah waktu fermentasi melewati 96 jam, terjadi penurunan kadar bioetanol. Menurut Kunaepah (2008) semakin lama waktu fermentasi maka jumlah mikroba semakin menurun, dan akan menuju ke fase kematian karena bioetanol yang dihasilkan semakin meningkat dan nutrisi yang ada sebagai makanan mikroba semakin berkurang.

Kondisi terbaik pada fermentasi ini diperoleh pada konsentrasi inokulum 14% dimana konsentrasi bioetanol cenderung meningkat hingga mencapai puncaknya pada waktu fermentasi 96 jam, yakni sebesar 6% (v/v). Perolehan bioetanol ini lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi inokulum 12%. Kusumaningati dkk (2013) menyatakan bahwa penambahan inokulum bisa meningkatkan kadar bioetanol karena mikroorganisme bisa memanfaatkan gula reduksi yang banyak akibat adanya penambahan inokulum. Menurut Presscott and Dunn (1959), faktor yang mempengaruhi peningkatan kadar bioetanol selama proses fermentasi adalah ketersediaan substrat gula reduksi dan jumlah mikroorganisme *Z.mobilis*.

Pada variasi konsentrasi inokulum 16% konsentrasi bioetanol cenderung meningkat hingga mencapai puncaknya pada waktu fermentasi 96 jam, yakni sebesar 5% (v/v). Perolehan bioetanol pada variasi inokulum 16% lebih rendah dibandingkan dengan perolehan bioetanol pada variasi inokulum 14%. Hal ini diduga setelah kondisi optimum tercapai, bertambahnya konsentrasi inokulum akan menurunkan kadar bioetanol hasil fermentasi. Semakin besar konsentrasi inokulum semakin banyak jumlah *Z.mobilis* yang terdapat pada inokulum. Selain sebagai proses metabolisme (mengkonversi substrat menjadi produk) *Z.mobilis* juga semakin banyak mengkonsumsi substrat dan nutrisi untuk pertumbuhan, baik dalam reproduksi membentuk sel-sel baru maupun memperbesar ukuran sel, sehingga tidak semua substrat terkonversi menjadi produk, dan produk yang dihasilkan menurun (Pramita, 2013).



#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa Kondisi terbaik dari fermentasi mahkota buah nanas ini adalah pada variabel konsentrasi inokulum 14% dan waktu fermentasi 96 jam dengan perolehan konsentrasi bioetanol sebesar 6% v/v.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, F.L. (2011). Pembuatan Bioetanol Dari Nira Sorgum menggunakan Bakteri *Zymomonas mobilis* Dengan Variasi Volume Inokulum, *Skripsi*, Teknik Kimia Universitas Riau. Pekanbaru
- Akbar, A. (2011). Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak (SKFS) Reject Pulp Menjadi Bioetanol Menggunakan Enzim Karbohidrase dan Kombinasi *Sacharomyces cereviceae*-*Pichia stiptis*, *Skripsi*, Teknik Kimia Universitas Riau: Pekanbaru.
- Bailey, J. E., David, F.O. (1986). *Biochemical Engineering Fundamentals*. Singapura : Mc.Graw Hill Chemical Engineering Series.
- Garbutt J. (1997). *Essentials of Food Microbiology*, London: Arnold.
- Kunaepah, U. (2008). Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Anti Bakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah, *Tesis*. Universitas Diponegoro: Semarang.
- Kusumaningati, A.M., Nurhatika, S., dan Muhibuddin, A. (2013). Pengaruh Konsentrasi Inokulum Bakteri *Zymomonas Mobilis* dan Lama Fermentasi Pada Produksi Etanol dari Sampah Sayur dan Buah Pasar Wonokromo Surabaya. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. Vol. 2, No.2
- Ningrum, E. F. (2015). Pembuatan Bioetanol dari Mahkota Buah Nenas Varietas Queen dengan Menggunakan Mikroba *Saccharomyces cerevisiae*, *Skripsi*, Politeknik Negeri Sriwijaya. Palembang.
- Prescott, S.C., dan Dunn, C.G. (1981). *Industrial Microbiology*, New York: Mc. Grow-Hill Book Co Ltd.
- Rachman, A. K., dan Sudarto, Y. (1991). *Nipah Sumber Pemanis Baru*, Yogyakarta: Kanisius.
- Rahmah, Y. (2015). Fermentasi Nira Nipah Menjadi Bioetanol Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dengan Penambahan Urea Sebagai Sumber Nitrogen, *Skripsi*, Universitas Riau. Pekanbaru
- Retno, D.T., dan Nuri, W. (2011). Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang, *Skripsi*, Jurusan Teknik Kimia. UPN "Veteran".
- Rogers, P.L., Jeon, Y.J., Lee, dan K.J., Lawford, H.G. (2007). *Zymomonas Mobilis For Fuel Ethanol and Higher Value Products*. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.
- Sudarmadji, S., Bambang Haryono., Suhardi., 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan Dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Wibowo, F. (2015). Pengaruh Kecepatan Pengaduk dan Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Bioetanol pada Fermentasi Nira Nipah Kental Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae*, *Jurnal Online Mahasiswa*, 2 (1), 1-6.